



REVISTA  
INVESTIGACIÓN EN SALUD  
UNIVERSIDAD DE BOYACÁ

ISSN: 2389 - 7325 Versión impresa  
ISSN: 2539-2018 Versión electrónica en línea

**PRÓXIMA PUBLICACIÓN EN LÍNEA**

El Comité Editorial de la Revista de Investigación en Salud de la Universidad de Boyacá ha aprobado para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares evaluadores y la calidad del proceso de revisión. Se publica esta versión en forma provisional, como avance en línea de la última versión del manuscrito vinculada al sistema de gestión, previa a la estructura y composición de la maquetación y diagramación, como elementos propios de la producción editorial de la revista.

Esta versión se puede descargar, usar, distribuir y citar como versión preliminar tal y como lo indicamos, por favor, tenga presente que esta versión y la versión final digital e impresa pueden variar.

**ARTICULO ORIGINAL**

**Perfil de tolerancia al triclosán y detección de los genes MexA, MexC, AcrB y oqxA relacionados con la expresión de bombas de expulsión en aislados clínicos del género Enterobacter aerogenes y Enterobacter cloacae.**

Luisa Fernanda Zanguña Fonseca<sup>1\*</sup>, María Inés Torres Caycedo<sup>2</sup>, Giselle Di Filippo Iriarte<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Empresa Social del Estado Santiago de Tunja, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2772-348X>

<sup>2</sup> Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0690-3182>

<sup>3</sup> Corporación Universitaria Rafael Nuñez, Colombia. ORCID:  
<https://orcid.org/0000-0002-7289-1653>

\* **Correspondencia:** Luisa Fernanda Zanguña Fonseca, **Dirección:** Transversal 0A # 69 – 50 Barrio Suamox, Tunja, Colombia. **Teléfono:** 745-0000, Extensión: 9201, **Correo:** lfzanguna@uniboyaca.edu.co, **Celular:** 3133029376.

Fecha de sometimiento: 06-09-2019

Fecha de Aceptación: 03-04-2020

## Resumen

**Introducción:** La resistencia a los antimicrobianos y la tolerancia a biocidas está dada por mecanismos comunes, generados por su uso en diferentes ambientes; mecanismos como la expresión de bombas de expulsión presentes en bacterias del género *Enterobacter* circulantes amenaza la eficacia de los antimicrobianos limitando las opciones de terapia antibiótica. **Objetivos:** Determinar el perfil de tolerancia al triclosán y detección de genes asociados a bombas de expulsión en aislados clínicos de *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal, se determinaron perfiles de tolerancia al triclosán por microdilución, de susceptibilidad antimicrobiana, confirmación fenotípica de mecanismos de resistencia, por reacción en cadena de la polimerasa, se identificó la presencia de genes que codifican para bombas de expulsión. **Resultados:** El 17% correspondió a *Enterobacter cloacae* y el 6% *Enterobacter aerogenes*. El 93,7% de los aislados clínicos del género *Enterobacter* presentó el fenotipo de resistencia BLEE y AmpC. En el 81,3% de los

aislamientos se obtuvo la presencia de al menos un gen relacionado con las expresión de bombas de expulsión, siendo frecuentes *MexC* y *AcrB*; no identificó presencia del gen *oqxA*. **Conclusiones:** La resistencia a diferentes grupos de antibióticos se identifica en especies de *Enterobacter* circulante, así la presencia de enzimas BLEE y AmpC, la presencia de genes relacionados con bombas de expulsión y la alta tolerancia al triclosán.

**Palabras clave:** triclosán, resistencia, bombas de expulsión, genes, biocida

**Triclosan tolerance profile and detection of the *MexA*, *MexC*, *AcrB* and *oqxA* genes related to the expression of expulsion pumps in clinical isolates of *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*.**

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Antimicrobial resistance and tolerance to biocides is given by common mechanisms, generated by the use of antimicrobial and biocidal substances in different environments, these mechanisms such as the expression of expulsion pumps present in bacteria of the *Enterobacter* genus circulating threatens the efficacy of antimicrobials by limiting antibiotic therapy options. **Objective:** to determine the triclosan tolerance profile and detection of genes associated with expulsion pumps in clinical isolates of *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*. **Materials and Methods:** An observational, descriptive and the cross-sectional study was performed, triclosan tolerance profiles were determined by microdilution, antimicrobial susceptibility, phenotypic confirmation of resistance

mechanisms, by the presence of polymerase chain reaction, the presence of genes that code for expulsion pumps. **Results:** The 17% corresponded to *Enterobacter cloacae* and 6% *Enterobacter aerogenes*. 93.7% of the clinical isolates of the genus *Enterobacter* presented the ESBL and AmpC resistance phenotype. In 81.3% of the isolates, the presence of at least one gene related to the expression of ejection pumps was obtained, with MexC and AcrB being frequent; did not identify the presence of the *oqxA* gene. **conclusions:** The resistance to different groups of antibiotics is identified in circulating *Enterobacter* species, as well as the presence of ESBL and AmpC enzymes, the presence of genes related to ejection pumps, and high tolerance to triclosan.

**Keywords:** triclosan, resistance, efflux pump, genes, biocide

## Introducción

Los biocidas son sustancias sintéticas de origen natural o químico, que son utilizados para la limpieza de superficies. El Triclosán es un derivado del fenol, siendo común encontrarlo como componente de enjuagues orales y cremas dentales, actúa contra bacterias Gram positivas y Gram negativas; su mecanismo de acción se da en la membrana citoplasmática, causando una bacteriólisis (1,2). Por su parte, *Enterobacter* es un género de bacterias Gram-negativos, anaeróbicas facultativas, que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, es una bacteria oportunista y multirresistente; su gran capacidad de diseminación se debe a la presencia de proteínas reguladoras de la permeabilidad de su membrana y de la expresión de enzimas detoxificantes que degradan e inactivan los antibióticos, una afinidad de esta especie es la capacidad para formar biopelículas, hasta el momento

hay dos especies comunes, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae* (2,3). La especie *Enterobacter cloacae* se encuentran ampliamente en la naturaleza, es frecuentemente aislada de muestras clínicas humanas en procesos infecciosos de sistema respiratorio y tracto urinario, por lo cual ha adquirido importancia clínica como bacteria oportunista y surgido como patógeno de infecciones asociadas a la atención en salud de pacientes de cuidados intensivos, especialmente para aquellos con ventilación mecánica (2).

Teniendo en cuenta la resistencia natural y la adquirida, las respuestas bacterianas frente a la acción de antibióticos y biocidas comparten algunas estrategias comunes, se evidencia que las bacterias pueden desarrollar una resistencia emergente a los antibióticos después de la exposición a biocidas, dado por la resistencia cruzada, el cambio fenotípico, la co-resistencia, los cambios en los perfiles de susceptibilidad de poblaciones microbianas, entre otras (4).

El género *Enterobacter sp* produce una  $\beta$ -lactamasa determinada por genes cromosomales que le confiere una resistencia natural; este tipo de resistencia está relacionada con una enzima del tipo *AmpC*, la cual se expresa de manera inducible (3,4) y se puede encontrar en todos los aislados clínicos silvestres (5,6), siendo este tipo de fenotipo resistente a ampicilina, cefalotina y cefoxitina (7,8). El *Enterobacter cloacae* se considera intrínsecamente resistente a las aminopenicilinas, cefalosporinas de primera generación y cefoxitina debido a la presencia de  $\beta$ -lactamasas del tipo *Ampc*, lo que implica susceptibilidad variable a cefalosporinas de tercera y cuarta generación (9,10,). De otra parte, en este género bacteriano se identifica el mecanismo de bombas de eflujo de la familia RND -

Resistencia, Nodulación, División celular- (11,12), como un paso evolutivo frente al presión de los antibióticos que contribuye a la resistencia intrínseca adquirida y que expresa fenotipos de multiresistencia antibiótica y tolerancia a sustancias biocidas (13,14).

El propósito de este estudio fue determinar los perfiles de tolerancia al Triclosán, perfiles de resistencia antibiótica y presencia de genes relacionados con la expresión de bombas de expulsión, en aislamientos de *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*, dado que en el medio se observa la circulación de *Enterobacter* con resistencia antibiótica en las cuales no se ha explorado aún su respuesta frente al triclosán (15).

### **Materiales y Métodos**

Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal. Se realizó un análisis univariado para determinar frecuencias de susceptibilidad o resistencia a los antibióticos utilizados en los perfiles de susceptibilidad antibiótica, frecuencia de respuesta a las concentraciones del biocida utilizadas en el perfil de tolerancia al triclosán y de la presencia de genes de bombas de expulsión en 12 aislamientos de *Enterobacter cloacae* y 4 de *Enterobacter aerogenes*, provenientes de 71 aislados de muestras clínicas de una IPS en el departamento de Boyacá. Se determinó la frecuencia de los perfiles de resistencia, de la tolerancia a diferentes concentraciones de triclosán y de genes relacionados con la expresión de bombas de expulsión. El trabajo fue avalado por comités de ética institucionales.

**Aislamiento e identificación:** Para la identificación de los aislamientos de *Enterobacter* sp. se realizó mediante el equipo Phoenix 100 con sistema de paneles para identificación de género, especie y se realizó pruebas de susceptibilidad por CIM -Concentración Mínima Inhibitoria- utilizando panel de antibióticos que incluyó las cefalosporinas de 1, 2, 3 y 4, carbapenémicos, amikacina, ampicilina sulbactam, ciprofloxacina, piperacilina tazobactam, Tigecilcina, trimetropin-sulfametoxazol. Estos aislamientos se conservaron en BHI- glicerol 20% a -80°C.

**Reactivación:** Se realizó reactivación de los aislados en caldo BHI (BD Brain Heart Infusión) a 37°C por 24 horas (overnight) en agitación.

**Confirmación fenotípica de mecanismos de resistencia:** Se realizó la confirmación de fenotipos de resistencia de los aislados clínicos de bacterianas de *Enterobacter* sp. siguiendo las normas CLSI 2017.

**Ensayo y montaje de tolerancia al triclosán:** El ensayo se realizó con una concentración estándar de la bacteria 1/10, tomando 100 µl del cultivo overnight y 900 µl solución salina 0.85%. Para la preparación de las diluciones del triclosán se partió de una concentración inicial  $C_i$  utilizando alcohol etílico 96°, las concentraciones utilizadas fueron C1 (1%), C2 (0.25 %), C3 (0.025%), C4 (0.0025%) y C5 (0.00025%), estas se prepararon en caldo BHI. El montaje se realizó en microplacas de 96 pocillos, se dispuso en los pozos las diferentes concentraciones de Triclosan y se utilizó control de medio de cultivo BHI, control de crecimiento bacteriano (medio BHI e inóculo), control de biocida (cada dilución); la microplacas se incubaron a 37°C por 24 horas. La lectura se realizó en el equipo Imark® Biorad

a una absorbancia 595 nm y la lectura de tolerancia se determinó con lectura de pozo biocida + inóculo y lectura control de biocida (16).

**Extracción de ADN:** Se utilizó el kit de extracción Wizard® Genomic DNA purificación de Promega, siguiendo el protocolo 003 Extracción de ADN (17). Se determino la concentración del ADN Nanodrop NANO Maestrogen®.

**Detección de genes de bombas de expulsión:** Los genes evaluados por PCR convencional fueron *oqxA*, *AcrB*, *Mex C* y *Mex A*. Se estandarizó el protocolo de PCR para cada gen y se utilizó termociclador LOMBOCON®. En la tabla 1 se muestra los primers utilizados en el estudio y el tamaño de banda de cada gen de resistencia. **Ver Tabla 1.**

**Tabla 2.** Primers utilizados en el estudio; tamaño de banda y temperatura de anillamiento.

Gen	Secuencia	Tamaño de la banda	Tm (c)	Referencia
<b><i>oqxA</i></b>	F 5'GACAGCGTCGCACAGAATG 3' R 5'GGAGACGAGGTTGGTATGGA 3'	339	59.5 °C	(18)
<b><i>AcrB</i></b>	F 5' GGTCGATTCGGTTCTCCGTTA -3' R 5'- CTACCTGCAAGTAAACGTCATTGGT -3'	107	61.3 °C	(19)
<b><i>MexA</i></b>	F 5'- CTGGAGGACGGTAGCCAATA -3' R 5'- GACGGAAACCTCGGAGAAT -3'	60	60.5 °C	(20)
<b><i>MexC</i></b>	F 5'AGCCAGCAGGACTTCGATAC 3' R 5' CAGTGACCGAGGCGTAGC 3'	118	60.7 °C	(2, 21)

Fuente: El estudio

**Electroforesis:** Para los genes *AcrB* y *Mex C* se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 2% y para el gen *Mex A* se realizó en gel de agarosa al 1.5%. Los parámetros de corrida fueron de 45 minutos a 50 voltios.

## Resultados

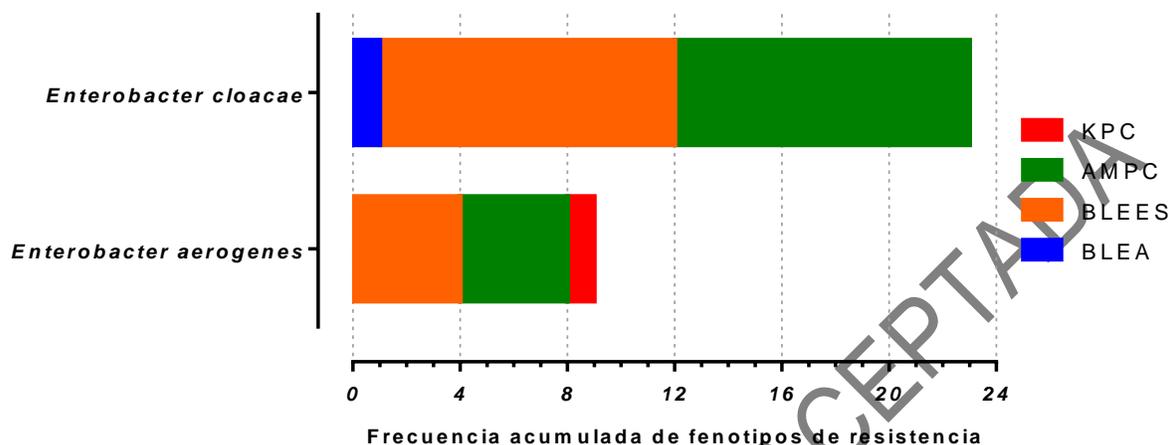
De 71 aislamientos clínicos de Gram negativas, se trabajó con 16 que se identificaron en el género *Enterobacter*, las especies fueron 12 aislados de *Enterobacter cloacae*, (75%) y 4 de *Enterobacter aerogenes* (25%).

### Perfiles de susceptibilidad de los aislados clínicos en estudio

Los 16 aislamientos de *Enterobacter* sp mostraron en los perfiles de susceptibilidad antibiótica que fueron sensibles a carbapenémicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas y cefalosporinas de 3° y 4° generación. Los grupos de antibióticos en los que presentan resistencia son las penicilinas, y las cefalosporinas de 1 y 2 generación. Se confirmó la presencia de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y de AmpC. El 93,7% de los aislados clínicos de *Enterobacter* sp presentaron el fenotipo de resistencia BLEE donde el 25% (n=4) correspondieron a la especie *Enterobacter aerogenes* y el 68.7% (n= 11) a *Enterobacter cloacae*. Una cepa de *Enterobacter cloacae* presento betalactamasas de amplio espectro BLEA; una cepa de *Enterobacter aerogenes* presento fenotipo de resistencia para KPC. En la gráfica 1 se observa una combinación de perfiles de resistencia entre los tipos BLEE y AMPC predominando en aislados clínicos de *Enterobacter cloacae* (n=11).

**(Figura 1)**

**Figura 1.** Perfil de resistencia bacteriana en aislados clínicos del género *Enterobacter*.



Fuente: El estudio

### Perfil de tolerancia al triclosán de los aislados clínicos en estudio

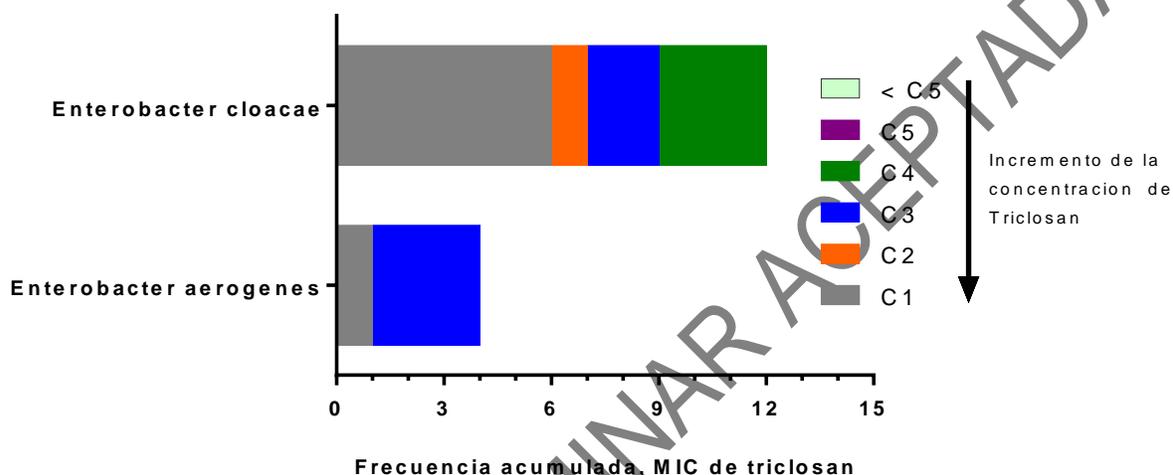
En relación con el perfil de tolerancia al triclosán todos los aislados clínicos de fueron tolerantes al triclosán en la concentración más baja C5 (0,00025%). La mayoría de los aislados clínicos fueron tolerantes hasta la concentración C1 (1%). El 43,8% de los aislamientos (n=7) fueron tolerantes hasta esta concentración, el 31,2% (n=5) fueron tolerantes hasta la concentración C3 (0,025%), seguido de un 18,8% de los aislados clínicos de que fueron tolerantes hasta la C4 (0,0025%). Solo 1 cepa fue tolerante al triclosán hasta la C2 (0,25%).

El 50% (n=6) de los aislados clínicos de *Enterobacter cloacae* fueron tolerantes hasta la C1 (1%), mientras que la concentración de triclosán hasta la que toleraron el 75% de los aislados clínicos de *Enterobacter aerogenes* fue la C3. En la Figura 2 se muestra la concentración de triclosán a la que fueron sometidas las especies de

*Enterobacter* y el número de aislados clínicos que toleraron hasta determinada concentración.

**Figura 2.** Tolerancia al triclosán, aislados clínicos del género *Enterobacter*.

Frecuencia acumulada de las MIC para las cepas estudiadas



\*Concentraciones finales de Triclosán: C1: 1%, C2:0.25%, C3:0.025%, C4:0.0025%, C5: 0.00025%

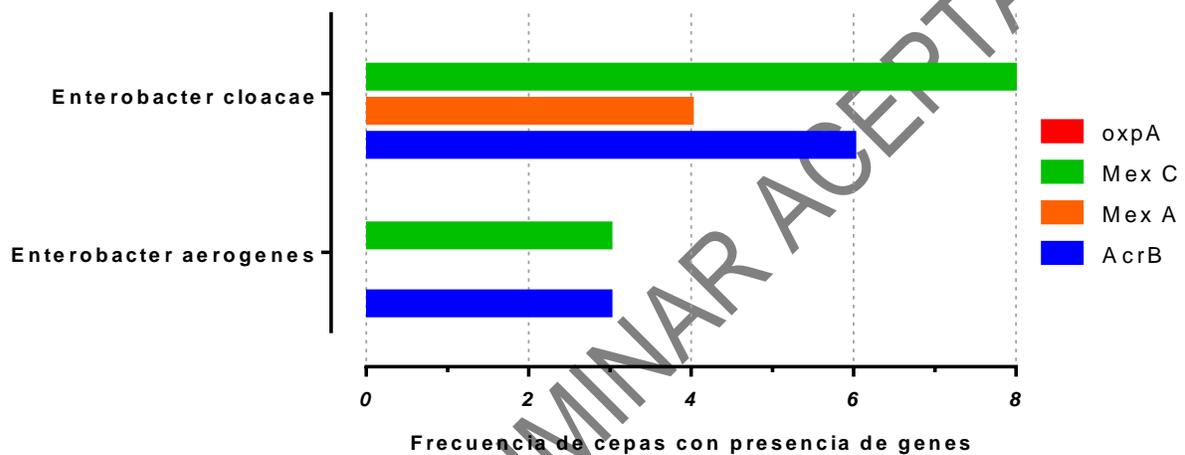
Fuente: El estudio

### Genes asociados a bombas de expulsión

En el 81,3% de los aislamientos del género *Enterobacter* se observó la presencia de al menos un gen de resistencia relacionado con la expresión de bombas de expulsión; por especie el 75% de *Enterobacter aerogenes* y el 83,3% de *Enterobacter cloacae* fueron positivos para la presencia de al menos uno de estos genes. Los genes *MexC* y *AcrB* fueron los más frecuentes en el género estudiado. En el 68,8% de los aislamientos se encontró la presencia del gen *MexC*, seguido

del gen *AcrB* con un 56,3% y el gen *MexA* con un 25%; no se observó la presencia del gen *oqxA*. (Figura 3).

**Figura 3.** Genes codificantes de bombas de expulsión en aislados clínicos de *Enterobacter*.



Fuente: El estudio

Se observó la presencia de uno o más genes en el mismo microorganismo, en el 75% de los aislados clínicos de *Enterobacter aerogenes* se detectó la presencia tanto del gen *MexA* y el gen *AcrB*, no se detectó la presencia del gen *MexC*. En el 16,6% (n=2) de los aislados clínicos de *Enterobacter cloacae* se observaron los 3 genes *acrB*, *MexA*, *MexC*. El gen con mayor frecuencia fue *MexC*.

**Tabla 2.** Genes de resistencia asociados a bombas de expulsión en especies de *Enterobacter*.

Especie de <i>Enterobacter</i>	Genes de resistencia asociados a bombas de expulsión			
	<i>AcrB</i>	<i>MexC</i>	<i>MexA</i>	<i>oqxA</i>
<i>E. aerogenes. 2Urc.</i>	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>E. aerogenes. 3Urc.</i>	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>E. aerogenes. 4Ept.</i>	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>E. cloacae. 1Urc.</i>	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>E. cloacae. 2Ept.</i>	Ausente	Presente	Ausente	Ausente
<i>E. cloacae. 3Ctv.</i>	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>E. cloacae. 4Shr.</i>	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>E. cloacae. 5Urc.</i>	Ausente	Presente	Ausente	Ausente
<i>E. cloacae. 6Ept.</i>	Presente	Presente	Presente	Ausente
<i>E. cloacae. 7Urc.</i>	Ausente	Presente	Presente	Ausente
<i>E. cloacae. 8Ept.</i>	Ausente	Presente	Presente	Ausente

Fuente: El estudio

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se identificaron 16 aislados clínicos de bacterianas de *Enterobacter sp* de un total de 71 aislamientos de bacterias Gram negativas provenientes de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) correspondiente a un 22,5 %, siendo identificadas las especies *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae* identificadas en un 25% y 75%, respectivamente. Este estudio es comparable a un estudio realizado por Jaramillo Gloria en el 2016

donde se aislaron 3,1% de *E. cloacae*. Sin embargo, la especie de *Enterobacter sp.* más frecuente fue *Enterobacter aerogenes* (19,22), según los resultados obtenidos presentaron dos mecanismos de resistencia (BLEES y AMPC), evidenciándose resistencia a cefalosporinas de primera y segunda generación y algunas de tercera generación como la Ceftriaxona. De acuerdo al estudio hecho por Tuon FF 2015 y Gonzalez M. 2007 este tipo de mecanismos esta asociado con la resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación debido a la sobreexpresión del mecanismo AmpC (23,24). En el presente estudio se muestra sensibilidad a cefalosporinas de tercera y cuarta generación, al igual que a las familias de los aminoglicósidos y carbapenemicos siendo este resultado un punto a favor para las opciones terapéuticas, en menor proporción se presentan los mecanismos de resistencia tipo BLEA y KPC y se presentan en menor proporción, esto en comparación con lo dicho por BRATU 2005 donde mencionan la extensión de *Enterobacteriaceae* productoras de KPC, este tipo de mecanismo no solo se encuentra en *Klebsiella pneumoniae* sino también en *E. coli*, *Enterobacter sp*, *Citrobacter sp*, *Serratia sp* y otras. Por su parte, *Enterobacter sp.* productor de KPC se ha descrito en algunas series de *Enterobacteriaceae*, y recientemente Stalin y Jenkins en el año 2014 publicaron un caso de infección por *Enterobacter gergoviae* productora de KPC en un paciente inmunosuprimido con desfavorable resultado a pesar de contar con una adecuada terapia (25).

La presencia de genes de resistencia tipo *acrB* se aprecia en una frecuencia notable en los aislados clínicos de *Enterobacter sp.*; la bomba de expulsión *acrAB-TolC* está frecuentemente presente en especies de *E. coli*, esta bomba está compuesta por un transportador activo secundario *acrB* ubicado en la membrana interna *TolC* que

funciona como canal en la membrana externa, la proteína *AcrAB* interacciona con las otras dos proteínas. Esta bomba permite el transporte de diferentes compuestos químicos que confiere un perfil amplio de resistencia a antibióticos, fluoroquinolonas entre otros (26); aportando a los perfiles de resistencia en los aislados clínicos de *Enterobacter cloacae* con la demostración de reguladores que influyen en la expresión de genes, como es el caso de la presencia del gen *AcrB* en un 18 % en *Enterobacter aerogenes* y un 37% *Enterobacter cloacae* (27).

Con respecto al gen *MexA* y *Mex C*, según estudios como Masuda en el año 2000 y Suarez en el 2018 (20,28) estos genes se expresan generando resistencia a diversos antibióticos. Esta sobreexpresión de la *MexAB-OprM*, *MexXY-OprM* y sistemas de eflujo *MexCD-OprJ* se demostró en 28% de los aislamientos bacterianos carbapenémicos no susceptibles, respectivamente, lo que sugiere la contribución de flujo de salida en la resistencia (29). En el estudio hecho por Wołkowicz en el 2016 se puede ver la frecuencia de los genes *MexA* y *MexC* en *P. aeruginosa* (30). Sin embargo, en nuestro estudio se detectó la presencia del gen *MexA* en el 100% de los aislamientos de *Enterobacter aerogenes* y hubo ausencia de este gen en los aislados clínicos de *E. cloacae*, a diferencia del gen *Mex C* que se encontró en el 75% y el 66,6% de los aislados clínicos de *Enterobacter cloacae* *E. aerogenes*, respectivamente.

El gen *oqxA* es un gen muy frecuente en aislados clínicos de *E. coli* que confiere resistencia antibióticos cefalosporinas, aminoglicosidos, en comparación con los aislados clínicos del estudio donde se ve resistencia a cefalosporinas de primera,

segunda, tercera y cuarta generación, sin embargo, en los aislados clínico de *Enterobacter sp* del estudio no se detectó presencia del gen *oqxA*; según Albornoz E en el 2017 la presencia del gen de resistencia *oqxA* se ve reflejado en especies de *E. coli* y *P. aeruginosa* (31). Las bacterias suelen tener mecanismos que muestran una amplia especificidad de sustrato siendo capaces de expulsar una variedad de compuestos, estos sistemas de eflujo incluyen una variedad de genes que estimulan la expresión de bombas de eflujo, como el sistema *MexA*, *MexC* de *P. aeruginosa* y *AcrB*, *oxqA* de *E. coli*.

En general, los mecanismos por los cuales las bacterias son resistentes al triclosán incluyen mutaciones, modificación enzimática y bombas de eflujo que se expresan en respuesta al estrés ejercido por el biocida (18,19). Si relacionamos los resultados de las concentraciones del biocida triclosán vemos una tendencia de tolerancia a las concentraciones expuestas, donde los aislados clínicos de *Enterobacter cloacae* presentan muestra tolerancia hasta C1(1%) y para el caso de *Enterobacter aerogenes* mantiene hasta C1 (1%) pero en menor proporción. Con lo anterior, se puede evidenciar que los microorganismos evaluados toleraran altas concentraciones del triclosán, biocida utilizado en el ámbito hospitalario, lo que puede estar asociado a la presencia de microorganismos en estas sustancias, a la adquisición de infecciones asociadas al cuidado de la salud y a la diseminación de estos. En este estudio no se obtuvieron aislados clínicos de intolerantes al triclosán, lo que da como resultado que se considere el aumento de las concentraciones del biocida en las soluciones de lavado (32).

## CONCLUSIONES

En este estudio se pudo demostrar que los aislamientos de *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae* toleran diferentes concentraciones del biocida triclosán por encima de 0.0025%, presentan genes *AcrB* y *MexC* que codifican bombas de expulsión como mecanismo de resistencia expresado, a la vez que mostraron perfiles de resistencia a antibióticos tipo BLEE y AmpC.

La resistencia a diferentes grupos de antibióticos, la presencia de enzimas BLEE y AmpC, de genes asociados a bombas de expulsión y la tolerancia al triclosán demuestra que en una misma bacteria pueden coexistir diferentes mecanismos de resistencia frente a la acción de los antibióticos utilizados actualmente; igualmente este mecanismo le confiere tolerancia a la acción de antisépticos como el triclosán, utilizado comúnmente en jabones quirúrgicos y elementos higiene personal aplicados en lavado de manos de personal de salud y en pacientes.

Este fenómeno se convierte cada día en un reto más para combatir las infecciones asociadas al cuidado de la salud que han aumentado a lo largo de las últimas décadas por los diversos mecanismos de resistencia bacteriana.

### **Declaración de conflicto de interés**

Los autores no declaran ningún conflicto de interés

### **Financiación:**

La financiación de este proyecto contó con el aporte de la Universidad de Boyacá

## Recomendaciones

Ampliar el número de concentraciones para precisas MIC -concentraciones mínimas inhibitorias-.

Continuar estudios para observar variabilidad en los determinantes genéticos identificados y relacionados con bombas de flujo.

## Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad de Boyacá y cada uno de los participantes en el estudio.

## Referencias

1. McCusker MP, Alves Ferreira D, Cooney D, Martins Alves B, Fanning S, Pagès JM, et al. Modulation of antimicrobial resistance in clinical isolates of *Enterobacter aerogenes*: A strategy combining antibiotics and chemosensitisers. *J Glob Antimicrob Resist* 2019;16:187–98. [Internet]. 2019;16:187–98. consultado: 11/11/2018 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.10.009>
2. Gong G, Um Y, Park TH, Woo HM. Complete genome sequence of *Enterobacter cloacae* GGT036: A furfural tolerant soil bacterium. *J Biotechnol*. 2015;193:43–4. [Internet]. 2015;193:43–4. consultado: 11/12/2018 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.11.012>
3. Ye J, Rensing C, Su J, Zhu YG. From chemical mixtures to antibiotic resistance. *J Environ Sci (China)*. 2017;62:138–44. [Internet]. 20/02/2017 consultado: 11/11/2018 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.09.003>
4. Paul D, Chakraborty R, Mandal SM. Biocides and health-care agents are more than just antibiotics: Inducing cross to co-resistance in microbes. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2019;174(March):601–10. [Internet]. [2019], consultado:30/04/2020 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.083>
5. Jiménez A, Tijerino A VJ. Mecanismos de resistencia a los antibióticos de importancia clínica en enterobacterias. *Cent Nac Ref en Bacteriol Lab Antimicrob* [Internet]. 2011;1:15. [Internet]. [30/05/2011], consultado: 09/02/2018 Disponible en:

[https://www.inciensa.sa.cr/vigilancia\\_epidemiologica/Manuales/Mecanismos de resistencia a los antibioticos en enterobacterias.pdf.pdf](https://www.inciensa.sa.cr/vigilancia_epidemiologica/Manuales/Mecanismos de resistencia a los antibioticos en enterobacterias.pdf.pdf)

6. Galas M, WHONET R. Grupo Kes. Serv ANTMICROBIANOS. 2000;52. consultado: 05/02/2019, Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2013/02/Grupo-KES-boletin-13.pdf>
7. Torres C. Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002;20(7):354–64. consultado: 05/02/2019 Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(02\)72815-2](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(02)72815-2)
8. Cortés JA. Resistencia en enterobacterias: evolución, enzimas y ambiente. *Infectio*. 2014;15(3):145–6. consultado: 17/02/2019 Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(11\)70077-7](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(11)70077-7)
9. Nastro M, Piazza LM, Saposnik E, García S, Barberis C, Vay C, et al. Resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en enterobacterias sin ampc inducible. Evaluación de los nuevos puntos de corte. *Rev Argent Microbiol*. 2012;44(1):30–5. Internet: [2012], consultado:30/04/2020 Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412012000100007](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412012000100007)
10. Garinet S, Fihman V, Jacquier H, Corvec S, Le Monnier A, Guillard T, et al. Elective distribution of resistance to beta-lactams among *Enterobacter cloacae* genetic clusters. *J Infect*. 2018;77(3):178–82. consultado: 19/02/2019 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.05.005>
11. Chevalier J, Mulfinger C, Garnotel E, Nicolas P, Davin-Régil A, Pagès JM. Identification and evolution of drug efflux pump in clinical *Enterobacter aerogenes* strains isolated in 1995 and 2003. *PLoS One*. 2008;3(9):1–8. Internet: [2003], consultado:29/04/2020 Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/5112/3884bee07f650b340064627c2f45f41773a4.pdf>
12. Guérin F, Lallement C, Isnard C, Dhalluin A, Cattoir V, Giard J. Landscape of Resistance-Nodulation-Cell Division (RND)-Type Efflux Pumps in *Enterobacter Cloacae* Complex. 2016;60(4):2373–82. Internet: [2016], consultado:28/04/2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/aac.02840-15>
13. Opperman TJ, Nguyen ST. Recent advances toward a molecular mechanism of efflux pump inhibition. *Front Microbiol*. 2015;6(MAY):1–16. Internet: [], consultado: 29/04/2020 Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00421>
14. Blanco P, Hernando-Amado S, Reales-Calderon J, Corona F, Lira F, Alcaide-Rico M, et al. Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Much More Than Antibiotic Resistance Determinants. *Microorganisms*. 2016;4(1):14. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms4010014>

15. Bratu S, Landman D, Alam M, Tolentino E, Quale J, Levine J, et al. Detection of KPC Carbapenem-Hydrolyzing Enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. 2005;49(2):776–8. consultado: 25/02/2019 Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.776-778.200>.
16. Universidad de Boyacá. Protocolo Biocidas. Stat F Theor. 2019;53(9):1689–99.
17. Universidad de Boyacá. Protocolo extracción de ADN. Mycol Res. 2002;106(11):1323–30.
18. Chen X, Zhang W, Pan W, Yin J, Pan Z, Gao S, et al. Prevalence of qnr, aac(6′)-Ib-cr, qepA, and oqxAB in *Escherichia coli* isolates from humans, animals, and the environment. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56(6):3423–7. consultado: 15/03/2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.06191-11>
19. Swick MC, Morgan-linnell SK, Carlson KM, Zechiedrich L. Expression of Multidrug Efflux Pump Genes *acrAB-tolC*, *mdfA*, and *norE* in *Escherichia coli* Clinical Isolates as a Function of Fluoroquinolone and Multidrug Resistance. Mechanisms of Resistance 2011;55(2):921–4. consultado: 15/03/2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.00996-10>
20. Ellappan K, Belgode Narasimha H, Kumar S. Coexistence of multidrug resistance mechanisms and virulence genes in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from a tertiary care hospital in South India. J Glob Antimicrob Resist. 2018;12:37–43. Internet: [2018], consultado:30/04/2020 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.08.018>
21. Gotoh N, Tsujimoto H, Tsuda M, Okamoto K, Nomura A, Wada T, et al. Characterization of the MexC-MexD-OprJ multidrug efflux system in  $\delta$ mexA-mexB-oprM mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42(8):1938–43. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC105713/>. PMID: 9687387
22. Jaramillo GJ, Pavas NC, Cárdenas JC, Gutiérrez P, Oliveros WA, Pinilla MA. *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) como potencial vector mecánico de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) en un centro hospitalario de Villavicencio (Meta-Colombia). Nova. 2016;14(25):19., consultado: Disponible en: consultado: 22/02/2019. Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.1723>
23. Cortés JA. Resistencia en enterobacterias: evolución, enzimas y ambiente. Infectio. 2011;15(3):145–6. Internet: [2011], consultado:29/04/2020 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v15n3/v15n3a01.pdf>
24. Tuon FF, Scharf C, Rocha JL, Cieslinsk J, Becker GN, Arend LN. KPC-producing *Enterobacter aerogenes* infection. Brazilian J Infect Dis 2015;19(3):324–7. Internet: [2015], consultado:22/02/2020 Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.01.003>

25. González Osorio M, Mendoza-Medellín A, Pavón Romero S, Becerril Plata R, Vilchis Quiroz A. Resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación en enterobacterias productoras de infecciones nosocomiales y caracterización preliminar de los plásmidos involucrados. *Cienc ergo-sum*. 2008;15(1):83–90. consultado: 25/02/2019 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5034962>
26. Yelin I, Kishony R. Antibiotic Resistance. *Cell*. 2018;172(5):1136-1136.e1. consultado: 28/02/2019 Disponible en: [https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(18\)30162-4.pdf](https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(18)30162-4.pdf)
27. Baucheron S, Tyler S, Boyd D, Mulvey MR, Chaslus-dancla E, Cloeckaert A. AcrAB-TolC directs efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(10):3729–35. consultado: 28/02/2019 Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.48.10.3729-3735.2004>
28. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(12):3322–7. consultado: 06/03/2019 Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1128/aac.44.12.3322-3327.2000>
29. Suarez CJ, Kattán JN, Guzmán AM, Villegas M V. Mecanismos de resistencia *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infectio*. 2006;10(2):85–93. consultado: 06/03/2019, Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-93922006000200006&script=sci\\_abstract&lng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-93922006000200006&script=sci_abstract&lng=es)
30. Wołkowicz T, Patzer JA, Kamińska W, Gierczyński R, Dzierżanowska D. Distribution of carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* isolates among hospitalised children in Poland: Characterisation of two novel insertion sequences disrupting the oprD gene. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016;7:119–25. consultado: 06/03/2019 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.08.007>
31. Alborno E, Lucero C, Romero G, Quiroga MP, Rapoport M, Guerriero L, et al. Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Clinical Enterobacteria from Argentina. *Microb Drug Resist*. 2017;23(2):177–87. consultado: 06/03/2019, Disponible en: <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0033>
32. Nomoto Y, Kubota Y, Ohnishi Y, Kasahara K, Tomita A, Oshime T, et al. Gene Cascade Finder: A tool for identification of gene cascades and its application in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*. 2019;14(9):1–16. Internet: [], consultado: 01/05/2020, Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215187>

VERSIÓN PRELIMINAR ACEPTADA